



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **136908** (13) **U**
(51) МПК (2019.01)
G01N 33/00
C07D 277/00
C40B 30/00
A61P 29/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2019 03539	(72) Винахідник(и): Кленіна Олена Валеріївна (UA), Зіменковський Борис Семенович (UA), Огурцов Володимир Вікторович (UA), Чабан Тарас Ігорович (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.04.2019	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.09.2019	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2019, Бюл.№ 17	(73) Власник(и): ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО, вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010 (UA)

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 5,7-ДИМЕТИЛ-6-ФЕНІЛАЗО-3Н-ТІАЗОЛО[4,5-В]ПІРИДИН-2-ОНУ**(57) Реферат:**

Спосіб прогнозування антиексудативної активності похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3Н-тіазоло[4,5-в]піридин-2-ону включає визначення рівня пригнічення ексудативної фази запальної реакції речовинами за допомогою моделі множинної лінійної регресії. Вимірюють коефіцієнт розподілу досліджуваної речовини у системі октанол-вода та обчислюють значення його десятичного логарифма, визначають величину радіальної функції розподілу - 4.0/ зважену за масою, і 3D-MoRSE дескриптора-сигналу 27/ незваженого та прогнозують антиексудативну активність досліджуваної речовини за формулою:

$$AEA = +41044 * RDF040m + 19494 * Mor27u + 7,043 * \log P + 24,026,$$

де AEA - величина антиексудативної активності речовин, виражена у формі десятичного логарифму рівня пригнічення запальної реакції, log %;

RDF040m - індикаторна змінна, радіальна функція розподілу - 4.0/ зважена за масою;

Mor27u - індикаторна змінна, 3D-MoRSE дескриптор-сигнал 27/ незважений;

logP - логарифм коефіцієнта розподілу речовини у системі октанол-вода.

UA 136908 U

Корисна модель належить до прогнозування біологічної активності хімічних сполук, зокрема антиексудативної активності похідних 5,7-диметил-3Н-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону, і може бути використана для скринінгу антиексудативної активності бібліотек низькомолекулярних сполук та для визначення шляхів до раціонального дизайну сполук зазначеного класу похідних для створення нових потенційних протизапальних лікарських засобів.

Перспективним напрямком у галузі розробки нових високоефективних лікарських засобів є створення комбінаторних бібліотек сполук та проведення їх високоефективного тотального скринінгу, при цьому суттєве підвищення ефективності цього підходу пов'язане із застосуванням методів прогнозування їх активності. Сучасні методи комп'ютерного молекулярного моделювання є невід'ємною частиною фундаментальних досліджень, спрямованих на вивчення молекулярних механізмів функціонування біологічних наносистем, прикладним аспектом яких є використання встановлених закономірностей у раціональному дизайні нових лікарських засобів. Одним із основних напрямків досліджень, які у теперішній час широко використовуються у драг-дизайні, є стратегія ліганд-орієнтованого підходу. У цьому випадку процес скринінгу та ідентифікації сполук з найвищою прогнозованою активністю проводиться із використанням методології QSAR-аналізу, що дозволяє суттєво підвищити ефективність процесу створення потенційних лікарських засобів на стадії ідентифікації сполук-"лідерів" та їх структурної оптимізації.

Запалення є основним патогенетичним компонентом багатьох захворювань різної етіології та однією із найважливіших проблем загальної патології і клініки. Проблема фармакологічної регуляції запалення є актуальною для сучасної медицини. Існує значна кількість ліків, які застосовуються для лікування запалення. Особливий попит мають нестероїдні протизапальні засоби, які поєднують цілий спектр властивостей, виявляючи протизапальну, анагетичну, жарознижувальну активність. Проте всі вони в різній мірі мають ульцерогенні властивості, що вимагає розробки нових більш ефективних і менш токсичних лікарських засобів. Класичним прикладом гострого запалення вважають ексудативне.

Конденсовані гетероциклічні системи та їх похідні з хімічної точки зору завдяки різноплановим хімічним властивостям є потужними "структурними блоками" для досліджень у хімії гетероциклів. Отже, поглиблене вивчення названих гетероциклічних систем, їх синтез, вивчення біологічної активності та встановлення взаємозв'язку між структурою і дією представляє безперечний інтерес як з теоретичної точки зору, так і в плані спрямованого синтезу потенційних лікарських засобів [Зіменковський Б.С. 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи. Монографія/ Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик. - Вінниця: Нова книга, 2004. - 106 с.]. Зокрема серед конденсованих гетероциклічних похідних на базі тіазолідону ідентифіковано ряд сполук з суттєвою антиексудативною активністю [О.В. Кленіна, Т.І. Чабан, В.В. Огурцов, І.Г. Чабан, І.Я. Голос. Моделювання 3D фармакофорів у молекулах похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3Н-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону// Журнал органічної та фармацевтичної хімії. - 2014. - С. 60-68.].

Визначення кількісних закономірностей зв'язку "структура - біологічна дія" (QSAR аналіз) є однією з методик, яка широко використовується для дослідження кореляцій між біологічною активністю сполук та фізико-хімічними властивостями речовин і параметрами їх молекулярної будови. QSAR моделі, які при цьому одержують, забезпечують інформацію щодо особливостей структури молекул "лікоподібних" речовин та окреслюють основні напрямки для подальшого раціонального дизайну потенційних лікарських засобів серед речовин досліджуваного класу.

За найближчий аналог нами прийнято спосіб визначення кількісних закономірностей залежності "структура-активність" та розробка QSAR-моделей для прогнозування антиоксидантної активності конденсованих похідних 1,3-тіазолідин-2-ону [О.В. Кленіна, Т.І. Чабан, В.В. Огурцов, І.Г. Чабан, Н.С. Сенета. QSAR аналіз антиоксидантної активності нових конденсованих похідних на основі 4-азолідонів// Фармацевтичний часопис, 2018. - № 3. - С. 5-16]. Зазначений спосіб базується на побудові ряду QSAR-моделей як функцій радикалпоглинаючої активності сполук за величинами 2D, 3D дескрипторів та фізико-хімічних молекулярних властивостей речовин.

Недоліками найближчого аналога є відсутність процедури попередньої підготовки масиву дескрипторів, що є кількісними вираженнями структурних параметрів або фізико-хімічних властивостей молекул речовин, шляхом їх шкалювання. Необхідність такої процедури пояснюється тим, що чисельні значення різних дескрипторів зазвичай коливаються у дуже широких межах. Процедуру нормалізації величин різних дескрипторів здійснюють шляхом приведення їх значень до єдиної шкали (як правило, у межах 0÷1). У разі відсутності такого шкалювання неможливо оцінити відносні внески кожного дескриптора у побудовану QSAR модель, що призводить, у свою чергу, до зниження її прогнозуючої здатності.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення ефективного способу прогнозування антиексудативної активності досліджуваних речовин з високою прогнозуючою здатністю.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі прогнозування антиексудативної активності похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-ону, що включає визначення антиексудативної активності сполук за допомогою моделі багатопараметричної лінійної регресії, згідно з корисною моделлю, вимірюють коефіцієнт розподілу досліджуваної речовини у системі октанол-вода, визначають величини радіальної функції розподілу - 4.0/зваженої за масою, і 3D-MoRSE дескриптора-сигналу 27/незваженого, для молекули певної структури і прогнозують величину антиексудативної активності досліджуваної речовини, виражену у формі десяткового логарифму рівня пригнічення запальної реакції у відсотках, досліджуваної речовини за формулою:

$$AEA = +41,044 * RDF040m + 19,494 * Mor27u + 7,043 * \log P + 24,026,$$

де AEA - величина антиексудативної активності речовин, виражена у формі десяткового логарифму рівня пригнічення запальної реакції, log %;

RDF040m - індикаторна змінна, радіальна функція розподілу - 4.0/зважена за масою;

Mor27u - індикаторна змінна, 3D-MoRSE дескриптор-сигнал 27/незважений;

logP - логарифм коефіцієнта розподілу речовини у системі октанол-вода.

Запропонований спосіб прогнозування антиексудативної активності базується на багатопараметричній лінійній регресії антиексудативної активності 36 похідних 5,7-диметил-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-ону та характеризується достовірними статистичними показниками: коефіцієнт кореляції R становить 0,911, стандартне відхилення s-2,171, стандартне відхилення суми квадратів похибки прогнозування S_{PRESS} -2,882, стандартне відхилення похибки прогнозування S_{DEF} -2,655, критерій Фішера - 48,991 та статистична значимість $p < 0,0001$. Запропонований спосіб також демонструє високу прогнозуючу здатність, визначену шляхом внутрішньої валідації за методом leave-one-out (LOO) та зовнішньої валідації за методом leave group out (LGO) для зовнішнього прогнозування, величини відповідних коефіцієнтів кросс-валідації становлять: $Q_{LOO}^2 - 0,768$; $Q_{LGO}^2 - 0,750$.

Спосіб здійснюють таким чином.

За допомогою методу струшування колби або за допомогою інших можливих методів визначають коефіцієнт розподілу речовини у системі октанол-вода. Вимірювання коефіцієнта розподілу проводять шляхом внесення достатньої кількості речовини у систему октанол-вода, струшування для встановлення рівноваги, центрифугування для розділення фаз, відбору водної фази за допомогою шприца і вимірювання концентрацій речовини окремо в октанолі та у воді за допомогою відповідного аналітичного методу. Вимірювання коефіцієнта розподілу речовини в системі октанол-вода можна провести також за допомогою інших методів: високоефективної рідинної хроматографії, методу повільного перемішування тощо.

У структурах молекул досліджуваних речовин за допомогою відповідної комп'ютерної програми для аналізу молекулярної структури та обчислення молекулярних дескрипторів визначають величини радіальної функції розподілу - 4.0/зваженої за масою, і 3D-MoRSE дескриптора-сигналу 27/незваженого, і розраховують антиексудативну активність речовин за формулою:

$$AEA = +41,044 * RDF040m + 19,494 * Mor27u + 7,043 * \log P + 24,026,$$

де AEA - величина антиексудативної активності речовин, виражена у формі десяткового логарифму рівня пригнічення запальної реакції, log %;

RDF040m - індикаторна змінна, радіальна функція розподілу - 4.0/зважена за масою;

Mor27u - індикаторна змінна, 3D-MoRSE дескриптор-сигнал 27/незважений;

logP - логарифм коефіцієнта розподілу речовини у системі октанол-вода.

Для моделі лінійної багатопараметричної регресії, вираженої формулою:

$$AEA = +41,044 * RDF040m + 19,494 * Mor27u + 7,043 * \log P + 24,026,$$

вибір оптимального набору молекулярних дескрипторів здійснювався із застосуванням алгоритму систематичного пошуку індикаторних змінних (Systematic search algorithm).

До початку побудови моделей було проведено процедуру нормалізації дескрипторів, величини всіх згенерованих дескрипторів було шкальовано за формулою:

$$X_{ij}^n = \frac{X_{ij} - X_{j,\min}}{X_{j,\max} - X_{j,\min}},$$

де X_{ij} та X_{ij}^n - вихідні та нормалізовані величини j-го ($j = 1, \dots, K$) дескриптора для сполуки i ($i = 1, \dots, N$), відповідно;

$X_{j,\min}$ та $X_{j,\max}$ - мінімальне та максимальне значення j-го дескриптора.

Таким чином, для всіх нормалізованих дескрипторів $\min(X_{ij}^n)=0$ і $\max(X_{ij}^n)=1$. Дескриптори з високою парною кореляцією, визначені на основі аналізу кореляційної матриці, було виключено з багатовимірного дескрипторного простору.

Також було здійснено розподіл загальної вибірки сполук на навчальну і контрольну за критерієм величин їх антиексудативної активності, при цьому кількість сполук у навчальній вибірці становить 27 сполук (75 % від їх загальної кількості), а у контрольній - 9 сполук (25 %).

Одержання QSAR-моделей проводилось методом множинної лінійної регресії (MLR-Multiple Linear Regression) у поєднанні з методом найменших квадратів (Partial Least Squares) для встановлення коефіцієнтів регресії з використанням програми BuiltQSAR. Статистично кількість досліджуваних сполук (N) та незалежних змінних (M), що використовуються у моделі, відповідали співвідношенню $N/M \geq 5$.

Таким чином, спосіб, що заявляється, є ефективним для прогнозування антиексудативної активності похідних 5,7-диметил-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-ону, а також вирізняється високою прогнозуючою здатністю.

Для розуміння запропонованої корисної моделі нижче наведено тлумачення характеристик молекул речовин, необхідних для здійснення прогнозування.

Молекулярний дескриптор RDF40m належить до 3D дескрипторів з підгрупи "RDF" (Radial Distribution Function), і є радіальною функцією розподілу - 4.0/зваженою за масою. Радіальна функція розподілу (RDF) є 3D конформаційним молекулярним дескриптором, визначення якого базується на розподілі міжатомних відстаней у молекулі. Формально RDF групи з N атомів може бути інтерпретована як ймовірність знаходження атома у сферичному об'ємі з радіусом R. В загальному вигляді Радіальна функція розподілу $RDF(R, A)$ може бути обчислена як:

$$RDF(R, A) = f \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>1}^N A_i A_j e^{-\frac{1}{2} (R - R_{ij})^2},$$

де R приймає значення $10 \leq R \leq 155$ з кроком 5 і $A = \{u, m, v, e, p\}$, u - незважений дескриптор, m - зважений за масою, v - зважений за Ван-дер-Ваальсівським об'ємом, e - зважений за електронегативністю, p - зважений за здатністю до поляризації (m, v, e, p зважуються за відповідним параметром атома Карбону). f є фактором шкалювання, R_{ij} - евклідова відстань між атомами i та j, A_i та A_j - типові (специфічні) властивості атомів i та j, що дозволяють розрізняти атоми у молекулі практично за всіма притаманними атомам властивостями. В є згладжувачим параметром, який визначає ймовірний розподіл індивідуальних атомам міжатомних відстаней і може бути інтерпретований як температурний фактор, що характеризує рух атомів.

Додатне значення коефіцієнта регресії перед величиною індикаторної змінної RDF40m вказує на те, що зростанню антиексудативної активності досліджуваних речовин сприяє позитивний внесок дескриптора, що відповідає атомному радіусу 4,0 Å. Інтерпретація одержаної QSAR-моделі в сенсі специфічних вкладів замісників та інших особливостей стеричної будови молекул досліджуваних сполук вказує на наявність лінійної залежності між активністю сполук та 3D молекулярним розподілом атомів з великими атомними масами у сферичному об'ємі молекули з радіусом 4,0 Å, в межах якого наявність важких атомів призводить до посилення активності речовин.

Молекулярний дескриптор Mor27u належить до групи 3D дескрипторів і є 3D-MoRSE дескриптором-сигналом 27/незваженим.

3D-MoRSE (3D Molecule Representation of Structures based on Electron diffraction) дескриптори розраховуються з моделі ІЧ-спектра з використанням загальної функції розсіювання. Звичайно MoRSE дескриптор позначається як Morsw де s та w приймають значення $1 \leq s \leq 32$, w - відповідний атомний важіль. Величини 3D-MoRSE обчислюють за рівнянням:

$$Mo(s, w) = (I(s, w) = \sum_{i=2}^n \sum_{j=1}^{n-1} w_i w_j \sin(sr_{ij}) / (sr_{ij})), \text{ де } (I(s, w)) - \text{інтенсивність розсіювання}$$

електронів; r_{ij} - евклідова відстань між атомами i та j; w_i і w_j - вага атомів i та j, відповідно.

Для одержання дескрипторів уніфікованого розміру, розподіл інтенсивності $(I(s, w))$ визначено як дискретний, її величини розраховують в послідовності рівномірно розподілених значень - 32 або 64 в діапазоні s 1-31 Å. Зрозуміло, що, чим більшим є число значень, тим вищою є роздільна здатність тривимірного представлення молекули.

Додатне значення коефіцієнта регресії перед величиною індикаторної змінної Mor27u вказує на зростання антиексудативної активності речовин при збільшенні величин дескриптора Mor27u.

Логарифм коефіцієнта розподілу речовини у системі октанол-вода $\log P$ є характеристикою ліофільності та є логарифмом відношення рівноважної концентрації сполуки в октанолі до її рівноважної концентрації у воді при контакті обох фаз.

Запропонований спосіб прогнозування антиексудативної активності похідних 5,7-диметил-3Н-тіазоло[4,5-*b*]тридин-2-ону дозволяє здійснювати скринінг антиексудативної активності комбінаторних бібліотек сполук даного класу статистично якісно та з високою прогнозуючою здатністю.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування антиексудативної активності похідних 5,7-диметил-6-фенілазо-3Н-тіазоло[4,5-*b*]піридин-2-ону, що включає визначення рівня пригнічення ексудативної фази запальної реакції речовинами за допомогою моделі множинної лінійної регресії, який **відрізняється** тим, що вимірюють коефіцієнт розподілу досліджуваної речовини у системі октанол-вода та обчислюють значення його десяткового логарифма, визначають величину радіальної функції розподілу - 4.0/ зважену за масою, і 3D-MoRSE дескриптора-сигналу 27/ незваженого та прогнозують антиексудативну активність досліджуваної речовини за формулою:

$$AEA = +41,044 * RDF040m + 19,494 * Mor27u + 7,043 * \log P + 24,026 ,$$

де AEA - величина антиексудативної активності речовин, виражена у формі десяткового логарифму рівня пригнічення запальної реакції, $\log \%$;

RDF040m - індикаторна змінна, радіальна функція розподілу - 4.0/ зважена за масою;

Mor27u - індикаторна змінна, 3D-MoRSE дескриптор-сигнал 27/ незважений;

$\log P$ - логарифм коефіцієнта розподілу речовини у системі октанол-вода.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601